

PCT
WELTORGANISATION FÜR GEIST
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLIC
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM



WO 9606138A1

<p>(51) Internationale Patentklassifikation 6 : C09B 61/00, B01D 11/02</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/06138</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Februar 1996 (29.02.96)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/03298</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 18. August 1995 (18.08.95)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 44 29 506.5 19. August 1994 (19.08.94) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): SKW TROSTBERG AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Dr.-Albert-Frank-Strasse 32, D-83308 Trostberg (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HEIDLAS, Jürgen [DE/DE]; Bergleite 11, D-83308 Trostberg (DE). CULLY, Jan [DE/DE]; Lerchenstrasse 14, D-84518 Garching (DE). WIESMÜLLER, Johann [DE/DE]; Bajuwarenstrasse 18, D-84518 Garching (DE). VOLLBRECHT, Heinz-Rüdiger [DE/DE]; Gräfin-Adelheid-Strasse 8, D-83352 Altenmarkt (DE).</p> <p>(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, MX, RU, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>	
<p>(54) Title: METHOD OF EXTRACTING NATURAL CAROTINOID DYES</p> <p>(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR EXTRAKTION NATÜRLICHER CAROTINOID-FARBSTOFFE</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns a method of extracting carotinoid dyes from pre-dried natural basic materials by means of compressed gases, such as propane and/or butane. In order to facilitate and complete the extraction process, organic entrainers can additionally be introduced. This method enables large yields of highly concentrated carotinoid dyes to be extracted.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Verfahren zur Extraktion von Carotinoid-Farbstoffen aus vorgetrockneten natürlichen Ausgangsmaterialien mit Hilfe von verdichteten Gasen, wie Propan und/oder Butan, wobei zur Erleichterung und Vervollständigung des Extraktionsvorganges zusätzlich organische Schleppmittel eingespeist werden können. Mit Hilfe dieses Verfahrens werden in großer Ausbeute hochkonzentrierte Carotinoid-Farbstoffe gewonnen.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LJ	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

- 1 -

Verfahren zur Extraktion natürlicher Carotinoid-Farbstoffe

BESCHREIBUNG

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Extraktion von Carotinoid-Farbstoffen aus natürlichen Ausgangsmaterialien mit verdichteten Gasen.

Carotinoide sind gelb bis tiefrot gefärbte Polyenfarbstoffe, die im Pflanzen- und im Tierreich weit verbreitet sind. Ihre Farbe geht auf ein Tetraterpenoid-Gerüst mit konjugierten Doppelbindungen zurück. Entsprechend ihrer funktionellen Gruppen unterscheidet man die Carotinoide in die Carotine (reine Kohlenwasserstoffe) und die Xanthophylle (mit polaren Substituenten am Kohlenstoffgerüst). Mit der veralteten Bezeichnung "Lipochrome" wurde den fettlöslichen Eigenschaften dieser Farbstoffe Rechnung getragen.

Ihrer starken Färbewirkung und ihrer vielfältigen Einsatzmöglichkeit hat sich traditionell auch die Lebensmittelindustrie bedient. Obwohl die Carotinoide in der Natur weit verbreitet sind, konnte sich die Industrie aber über lange Zeit hinweg kaum ergiebige Quellen erschließen, aus denen sie Carotinoide in größeren Mengen wirtschaftlich gewinnen konnte. Erst die Methoden der chemisch-synthetischen Industrie führten über die Herstellung synthetischer Carotinoide in kostengünstigere Bereiche.

Ein zunehmend kritisches Verbraucherverhalten sowie die daraus resultierende Nachfrage nach "natürlichen" Lebensmitteln und Farbstoffen hat der modernen Lebensmitteltechnologie nunmehr die Aufgabe gestellt, Lebensmittelzusatzstoffe bereitzustellen, die aus natürlichen Quellen stammen und darüber hinaus schonend und naturbelassen aufgearbeitet wurden. In jüngster Zeit bieten Fermentationsverfahren die Möglichkeit, Carotinoide auf mikrobiologischem Weg und damit natürlich und in größeren Mengen zu gewinnen.

- 2 -

Zur Isolierung der Carotinoid-Farbstoffe aus natürlichen Quellen wurden in der Vergangenheit die unterschiedlichsten Verfahren entwickelt. So beschreibt beispielsweise die US-Patentschrift Nr. 2,170,872 eine Methode zur Extraktion von Carotinoiden, bei der das pflanzliche Material zum Aufschluß der fettlöslichen Matrixbestandteile zunächst mit Natronlauge behandelt werden muß, dann mit Wasserdampf erhitzt wird und schließlich mit Petrolether oder Hexan extrahiert wird. Der so gewonnene Extrakt muß abschließend mit Wasserdampf destilliert und die wäßrige Phase mit einem Öl erneut extrahiert werden. Die anfallende ölige Lösung wird als färbendes Produkt eingesetzt.

Die Verwendung organischer Lösemittel ist immer noch weit verbreitet, um ausgehend von getrockneten Naturstoffen Carotinoide in größeren Mengen zu gewinnen. Eine derartige Methode ist der US-Patentschrift Nr. 1,988,031 zu entnehmen, derzufolge man pflanzliches Material, insbesondere Karotten, zunächst mit lipophilen Lösemitteln wie Propylalkohol versetzt, um die Carotinoid-Farbstoffe auf diese Weise zu präzipitieren. Das so gewonnene Karottenpulver wird anschließend mit Petrolether wiederholt extrahiert und konzentriert, wobei die Carotinoid-Farbstoffe immer mehr auskristallisieren.

Ein lösemittelfreies Verfahren bietet die WO 92/18471 an. Dabei wird der von pflanzlichem Material stammende Extrakt in eine Carotinoid-haltige Flüssigfraktion und eine Pulpe getrennt und die Flüssigfraktion mit Salzen wie CaCl_2 versetzt, wobei die Carotinoide ausgefällt werden.

Prinzipiell hat es sich allerdings als vorteilhaft erwiesen, bei der Extraktion der Carotinoide die begleitenden Fettstoffe zu entfernen, die sonst mit in den Extrakt übergehen und anschließend - insbesondere bei niedrigen Carotinoidkonzentrationen - die Kristallisation der Farbstoffe stören würden. Aus dieser Erfahrung heraus wurde deshalb oft der Verfahrensweg beschritten, die störenden Öle zu verseifen,

- 3 -

wie beispielsweise gemäß US 2,032,006. Das dort beschriebene Verfahren bedient sich bereits der von Preston et al. (Food Chem. 5(1), 47, 1980) beschriebenen Erkenntnis, daß hohe Prozeßtemperaturen bei der Gewinnung von Carotinoiden vermieden werden sollten, da diese Verbindungen sehr thermolabil sind und bei erhöhten Temperaturen zur Isomerisierung der Doppelbindungen und/oder zur Zersetzung neigen.

Die rasante Entwicklung der Extraktion von Naturstoffen mit Hilfe von z.B. verdichteten Gasen hat es möglich gemacht, Carotinoid-Farbstoffe unter schonenderen Prozeßbedingungen als den beschriebenen zu gewinnen. So wird unter anderem im US-Patent Nr. 4,400,398 eine Extraktionsmethode mit überkritischem CO₂ beschrieben, die mehrerer Stufen durchläuft, wobei zunächst aromatische Verbindungen (Scharfstoffe) aus rotem Pfeffer abgetrennt werden und das beladene überkritische Gas dann aufgereinigt wird, um es schließlich zur Farbstoffextraktion erneut einzusetzen; die Drücke betragen im Schritt der Farbstoffextraktion > 350 bar.

Die allgemein notwendigen Verfahrensparameter bei der Farbstoff-Extraktion mit überkritischem CO₂, wie sehr hohe Drücke (bis zu 700 bar) und äußerst hohe spezifische Gasdurchsatzraten, lassen aber nur sehr unbefriedigende Extraktionsergebnisse hinsichtlich der Gewinnung von Carotinoid-Farbstoffen zu, weshalb sich die Anwendung der CO₂-Extraktion zur Farbstoffgewinnung auch als unwirtschaftlich erwiesen hat.

Ein neueres, in der US-Patentschrift 5,264,212 beschriebenes Extraktionsverfahren zieht zwar ebenfalls überkritisches CO₂ heran, es umgeht aber die für die Extraktion von Carotinoiden üblicherweise notwendigen hohen Drücke, indem es nicht die Farbstoffe, sondern die unerwünschten Begleitstoffe aus rotem Pfeffer extrahiert, die Farbstoffe aber im Ausgangsmaterial beläßt. Der gravierende Nachteil dieser Methode besteht allerdings darin, daß auf diese Weise Carotinoid-Farbstoffe mit nur sehr geringer Reinheit erhalten werden, da zusammen

- 4 -

mit den Farbstoffen auch der überwiegende Anteil der komplexen Naturstoffmatrix im Rückstand verbleibt.

Aus den beschriebenen Nachteilen des Standes der Technik heraus hat sich deshalb die Aufgabe gestellt, ein sowohl in technischer als auch in wirtschaftlicher Hinsicht verbessertes Verfahren zur Extraktion von Carotinoid-Farbstoffen bereitzustellen, mit dem es möglich ist, Carotinoide in hohen Konzentrationen bei gleichzeitig großer Ausbeute zu isolieren.

Gelöst wurde diese Aufgabe durch ein Verfahren zur Extraktion von Carotinoid-Farbstoffen aus natürlichen Ausgangsverbindungen mit verdichteten Gasen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß das vorgetrocknete Ausgangsmaterial mit verdichtetem Propan und/oder verdichtetem Butan gegebenenfalls in Gegenwart eines organischen Schleppmittels bei Temperaturen zwischen 20 und 100°C und Drücken zwischen 10 und 200 bar extrahiert wird.

Trotz der bekannt guten Lösevermögen von sowohl verdichtetem Propan als auch verdichtetem Butan für lipophile Stoffe wurde überraschend festgestellt, daß die Löslichkeit großer Gehalte an Carotinoid-Farbstoffen in den beiden genannten Gasen oder Mischungen davon deutlich verbessert wird, wenn zusätzlich ein organisches Schleppmittel als Co-Solvens eingesetzt wird. Dies ist umso überraschender als die Summe aus den Einzellösevermögen der in Frage kommenden Schleppmittel, wie auch der Lösemittel Propan und Butan, ein deutlich schlechteres Gesamtlösevermögen erwarten ließen als die tatsächliche Mischung dieser Solventien letztlich zeigt.

Auf der anderen Seite war nicht zu erwarten, daß die Extraktion von Naturstoffen mit niedrigeren Carotinoid-Gehalten bei den gewählten zum Teil sehr hohen Temperaturbereichen auch ohne den Zusatz von organischen Schleppmitteln nahezu quantitativ verläuft.

- 5 -

Zur Durchführung der vorliegenden Erfindung hat es sich als nützlich erwiesen, das jeweilige Ausgangsmaterial tierischen, pflanzlichen oder mikrobiologischen Ursprungs auf einen Wassergehalt von < 80 Gew.-% nach dem Stand der Technik vorzutrocknen, wobei ein verbleibender Wasseranteil von < 50 Gew.-% zu bevorzugen ist; die besten Extraktionsergebnisse lassen sich mit extrem trockenem Extraktionsgut mit Wassergehalten < 10 Gew.-% erzielen. Als Ausgangsmaterial besonders geeignet erwiesen haben sich pflanzliche Naturstoffe wie Paprika, Karotten, Schalen von Zitrusfrüchten oder bestimmte Teile von Blumen wie Tagetes-Blüten, die erst getrocknet, dann zermahlen und/oder pelletiert werden. Als tierische Quellen haben sich insbesondere getrocknete Teile von Krustentieren empfohlen.

Besonders bei Ausgangsmaterialien mit hohen Gehalten an Carotinoid-Farbstoffen, wie z.B. entsprechende Fermentationsrückstände, ist es erfindungswesentlich, die Extraktion in Gegenwart eines organischen Schleppmittels durchzuführen. Für diesen Zweck sollten Solventien gewählt werden, die entsprechend der Direktive der EG-Kommission 88/344/CEE (Journal officiel des communautés européennes No. L 157/28 vom 24.06.1988) als Lösemittel der Gruppe 1 uneingeschränkt für den Einsatz in der Lebensmitteltechnologie geeignet sind. Hier ist - neben den eigentlichen erfindungsgemäßen Lösemitteln Propan und Butan - bevorzugt ein Vertreter aus der Reihe Aceton, Ethylacetat, Butylacetat und Ethanol auszuwählen; es können aber auch gemäß vorliegender Erfindung andere kurzkettige Alkohole mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, bevorzugt Methanol aber auch Butanole, Petrolether und andere reine Kohlenwasserstoffe wie Hexan, herangezogen werden.

Die für diesen Zweck zu wählende Konzentration der eingespeisten Schleppmittel kann in relativ weiten Bereichen variiert werden und ist auf den jeweils zu extrahierenden Naturstoff abzustimmen. Verfahrenstechnische Überlegungen lassen die einzuspeisenden Schleppmittelmengen möglichst gering und

- 6 -

gleichzeitig den spezifischen Lösemitteldurchsatz nahe dem Minimum halten. Unter Berücksichtigung dieser Vorgaben haben sich für das vorliegende Verfahren Schleppmittelkonzentrationen zwischen 5 und 50 Gew.-%, bezogen auf die Menge an sich im Extraktor befindlichem verdichteten Gas(-gemisch) als geeignet erwiesen, wobei die Berücksichtigung wirtschaftlicher Aspekte einen bevorzugten Bereich von 10 bis 30 Gew.-% nahelegt.

Bezüglich des Verfahrensparameters Druck hat es sich als günstig erwiesen, beim erfindungsgemäßen Extraktionsverfahren mit deutlich niedrigeren Drücken zu arbeiten als sie beispielsweise aus der CO₂-Extraktionstechnik bekannt sind. So hängt der Extraktionsdruck der vorliegenden Erfindung zwar von der Zusammensetzung des jeweiligen verdichteten Gas(-gemisch)es ab, die Prozeßdrücke bewegen sich aber stets im bevorzugten Bereich zwischen 15 und 40 bar, wobei der Druck bei Verwendung von verdichtetem Propan < 40 bar und bezüglich verdichtetem Butan < 20 bar sein kann. Selbstverständlich sind auch höhere Verfahrensdrücke anwendbar, jedoch sind diese erstens aus verfahrenstechnischer Sicht nicht unbedingt notwendig und zum zweiten wird man auch unter anderen Gesichtspunkten immer bestrebt sein, den Verfahrensdruck möglichst niedrig zu halten.

Mit den angegebenen Drücken sind natürlich die Extraktions-temperaturen eng korreliert. Neben dem erfindungswesentlichen, breiten Temperaturbereich von 20 bis 100°C, hat es sich für eine effektive Verfahrensdurchführung als sehr günstig erwiesen, vorzugsweise bei Temperaturen zwischen 50 und 90°C zu extrahieren.

Dem eigentlichen Extraktor ist ein Extraktabscheider nachgeschaltet, in dem der Farbstoffextrakt gegebenenfalls zusammen mit dem Schleppmittel aus dem Extraktionsgas abgeschieden wird. Vor allem der Druck muß sich in diesem Modul im Hinblick auf eine optimale Extraktseparierung deutlich vom

- 7 -

eigentlichen Extraktionsdruck unterscheiden und soll daher im Extraktabscheider gemäß Erfindung auf 5 bis 10 bar abgesenkt werden. Die Temperatur soll auf $> 45^{\circ}\text{C}$ eingestellt werden. Die genannten Änderungen im Extraktabscheider können zeitlich parallel vorgenommen werden, es kann aber auch die jeweils günstigere Verfahrensmaßnahme ausgewählt werden. Ziel der erwähnten Vorgehensweise ist eine deutliche Gasphasentrennung, mit deren Hilfe das Lösemittel vom schleppmittelhaltigen Extrakt separiert werden kann.

Im Anschluß wird der abgeschiedene schleppmittelhaltige Extrakt abgezogen und der Farbstoff vorzugsweise aus dem Extrakt durch entsprechende Kühlung auskristallisiert.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform des vorliegenden Verfahrens werden die begleitenden Fettstoffe mit dem verdichteten Gas(-gemisch) ohne Schleppmittelzusatz vorextrahiert, wobei die Triglyceridfraktionen nahezu vollständig, die Carotinoid-Farbstoffe jedoch nur zum Teil abgetrennt werden. Die Farbstoffextraktion wird anschließend unter Zudosierung des Schleppmittels vervollständigt, wodurch ein Extrakt mit stark angereicherten Farbstoffen erhalten wird.

Im Zuge der Bereitstellung wirtschaftlicher und ökologisch sinnvoller Verfahren folgt das erfindungsgemäße Extraktionsverfahren üblicherweise dem Prinzip des Kreisprozesses. Sowohl das Extraktionsgas als auch das Schleppmittel werden dabei zurückgewonnen und erneut in den Prozeß eingeschleust.

Die nachfolgend aufgeführten Beispiele verdeutlichen anschaulich die beschriebenen Vorteile des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Beispiel 1

Carotinoid-Extraktion von pflanzlichem Ausgangsmaterial ohne Schleppmittel

- 8 -

200 g eines handelsüblichen edelsüßen Paprikapulvers (Carotinoidgehalt: 0,34 Gew.-%, Wassergehalt: 11 Gew.-%) wurden bei 20 bar und 45°C mit 1 kg verdichtetem Propan durchströmt. Anschließend wurden im Extraktabscheider bei 8 bar und 50°C 22 g tiefrotes Öl gesammelt. Die Bestimmung des Carotinoidgehaltes im Extraktionsrückstand (178 g) ergab 0,08 Gew.-%. Die Extraktionsausbeute nach der Farbstoffkristallisation betrug somit 71 Gew.-%, bezogen auf den Gesamtcarotinoid-Gehalt im Ausgangsmaterial.

Beispiel 2

Carotinoid-Extraktion von Fermentationsrückstand mit Aceton als Schleppmittel

200 g getrockneter Fermentationsrückstand eines Carotinoid-bildenden Pilzes aus der Klasse der Zygomyceten (Carotinoidgehalt: 5,4 Gew.-%, Wassergehalt: 7 Gew.-%) wurden zunächst mit 1 kg verdichtetem Propan bei 30 bar und 70°C extrahiert. Anschließend wurden weitere 1,5 kg Propan unter zusätzlicher Einspeisung von Aceton (25 Gew.-%, bezogen auf Propan) durch den Extraktionsautoklaven geführt. Der Extraktionsrückstand wurde anschließend mit 0,5 kg Propan nachextrahiert, um das Schleppmittel aus dem Rückstand zu entfernen. Die entsprechenden Extrakte wurden gemeinsam im Extraktabscheider bei 6 bar und 50°C gesammelt. Nach der Entnahme aus dem Extraktabscheider wurde das Aceton destillativ entfernt, wobei 134 g tiefroter Extrakt erhalten wurden, aus dem das β -Carotin auskristallisiert wurde. Die Gesamtcarotinoid-Bestimmung im Extraktionsrückstand (66 g) ergab 2,2 Gew.-%. Die Extraktionsausbeute an Carotinoiden betrug somit 86 %, bezogen auf den Gehalt des Ausgangsmaterials.

Beispiel 3

Carotinoid-Extraktion von Fermentationsrückstand mit Ethylacetat als Schleppmittel

- 9 -

200 g des Fermentationsrückstandes aus Beispiel 2 wurden unter den dort genannten Bedingungen extrahiert, wobei anstelle von Aceton (25 Gew.-%, bezogen auf Propan) Ethylacetat als Schleppmittel eingesetzt wurde. Nach dem Entfernen des Schleppmittels aus den gesammelten Extrakten wurden 120 g tiefrotes Öl isoliert. Der Gesamtcarotinoid-Gehalt im Extraktionsrückstand (80 g) betrug 3,2 Gew.-%. Die Extraktionsausbeute an Carotinoid betrug nach dem Kristallisationsschritt 69 %, bezogen auf den Gehalt des Ausgangsmaterials.

Beispiel 4

Carotinoid-Extraktion von Fermentationsrückstand mit Ethanol als Schleppmittel

200 g des Fermentationsrückstandes aus Beispiel 2 wurden unter den dort genannten Bedingungen extrahiert, wobei anstelle von Aceton 20 Gew.-% Ethanol (99,8 %-ig) als Schleppmittel eingesetzt wurde. Nach dem Abdestillieren des Ethanols von den gesammelten Extrakten wurden 113 g tiefrotes Öl isoliert. Der Gesamtcarotinoid-Gehalt im Extraktionsrückstand (87 g) betrug 4 Gew.-%. Die Extraktionsausbeute an Carotinoid betrug nach der Auskristallisation des Farbstoffes 60 %, bezogen auf den Gehalt des Ausgangsmaterials.

Beispiel 5

Carotinoid-Extraktion von pflanzlichem Ausgangsmaterial mit Aceton als Schleppmittel

200 g getrocknete Blüten von *Tagetes patula* (Gesamtcarotinoid-Gehalt: 4,0 Gew.-%, Wassergehalt: 8 Gew.-%) wurden mit 0,6 kg verdichtetem Propan bei 35 bar und 75°C extrahiert. Danach wurde unter den gleichen Bedingungen 1 kg Propan mit Aceton als Schleppmittel (15 Gew.-%, bezogen auf Propan) durch den Extraktionsautoklaven geführt und anschließend mit 0,5 kg Propan ohne Schleppmitteleinspeisung

- 10 -

nachextrahiert. Nach der Entnahme der gesammelten Extrakte aus dem Extraktabscheider, der bei 6 bar und 45°C betrieben wurde, konnten nach dem Abdestillieren des Schleppmittels 29 g intensiv gefärbter, öliges Extrakt isoliert werden. Im Extraktionsrückstand (171 g) wurden 0,9 Gew.-% Gesamtcarotinoide spektralphotometrisch bei 450 nm bestimmt. Die Extraktionsausbeute an Carotinoiden lag bei 80 %, bezogen auf das Ausgangsmaterial.

Beispiel 6

Carotinoid-Extraktion von Fermentationsrückstand mit Butan und Aceton als Schleppmittel

200 g getrockneter Fermentationsrückstand eines Carotinoidbildenden Pilzes aus der Klasse der Zygomyceten (Carotinoidgehalt: 5,4 Gew.-%, Wassergehalt: 7 Gew.-%) wurden zunächst mit 1 kg verdichtetem Butan (50 % n-, 50 % i-Butan) bei 13 bar und 70°C extrahiert. Anschließend wurden weitere 1,5 kg Extraktionsgas unter zusätzlicher Einspeisung von Aceton (25 Gew.-%, bezogen auf Butan) durch den Extraktionsautoklaven geführt. Der Extraktionsrückstand wurde anschließend mit 0,5 kg reinem Extraktionsgas nachextrahiert. Die jeweiligen Extrakte wurden gemeinsam im Extraktabscheider bei 4 bar und 50°C gesammelt. Nach der Entnahme aus dem Extraktabscheider wurde das Aceton destillativ entfernt, wobei 140 g tiefroter Extrakt gewonnen wurden, aus dem die Kristallisation des β -Carotins vorgenommen wurde. Im Extraktionsrückstand (60 g) wurden 2,1 Gew.-% Gesamtcarotinoid bestimmt. Die Extraktionsausbeute betrug somit ca. 85 %, bezogen auf den Gehalt des Ausgangsmaterials.

- 11 -

Patentansprüche

1. Verfahren zur Extraktion von Carotinoid-Farbstoffen aus natürlichen Ausgangsmaterialien mit verdichteten Gasen, dadurch gekennzeichnet, daß das vorgetrocknete Ausgangsmaterial mit verdichtetem Propan und/oder verdichtetem Butan gegebenenfalls in Gegenwart eines organischen Schleppmittels bei Temperaturen zwischen 20 und 100°C und Drücken zwischen 10 und 200 bar extrahiert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Wassergehalt des Ausgangsmaterials < 80 Gew.-%, bevorzugt < 50 Gew.-%, besonders bevorzugt < 10 Gew.-% beträgt.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das organische Schleppmittel aus der Reihe Aceton, Ethylacetat, Butylacetat stammt.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das organische Schleppmittel aus der Reihe kurzkettige Alkohole mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, bevorzugt Methanol und Ethanol, Petrolether und reine Kohlenwasserstoffe, bevorzugt Hexan, stammt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das organische Schleppmittel in Konzentrationen zwischen 5 und 50 Gew.-%, bevorzugt zwischen 10 und 30 Gew.-%, bezogen auf die Menge an verdichtetem Gas (-gemisch) eingesetzt wird.

- 12 -

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Extraktion bei Temperaturen zwischen 50 und 90°C
durchgeführt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Extraktion bei Drücken zwischen 15 und 40 bar
durchgeführt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Abscheidung des Extraktes durch Druckabsenkung
auf 5 bis 10 bar und/oder durch Temperaturerhöhung auf
> 45°C erfolgt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet,
daß zuerst mit dem verdichteten Gas(-gemisch) vorextra-
hiert wird und dann die Extraktion durch Schleppmittel-
zugabe vervollständigt wird.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Carotinoid-Farbstoffe aus dem abgeschiedenen
Extrakt durch Kühlung auskristallisiert werden.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No

PCT/EP 95/03298

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C09B61/00 B01D11/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C09B B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE,C,31 14 593 (F. KRUPP GMBH) 9 December 1982 see column 4, line 4; claim 37; examples & US,A,4 400 398 cited in the application ---	1-10
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 010 no. 023 (C-325) ,29 January 1986 & JP,A,60 176563 (SANEI KAGAKU KOGYO KK) 10 September 1985, see abstract ---	1-10
A	EP,A,0 480 476 (KIMBERLY CLARK CO) 15 April 1992 see abstract -----	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 December 1995

Date of mailing of the international search report

15.12.95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Dauksch, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Inter national Application No

PCT/EP 95/03298

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-C-3114593	09-12-82	US-A- 4400398	23-08-83

EP-A-0480476	15-04-92	US-A- 5009745	23-04-91
		US-A- 5009746	23-04-91
		US-A- 5074958	24-12-91
		AU-B- 648343	21-04-94
		AU-B- 8574891	30-04-92
		JP-A- 4281088	06-10-92
		US-A- 5213660	25-05-93

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter: sales Aktenzeichen

PCT/EP 95/03298

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C09B61/00 B01D11/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C09B B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DE,C,31 14 593 (F. KRUPP GMBH) 9.Dezember 1982 siehe Spalte 4, Zeile 4; Anspruch 37; Beispiele & US,A,4 400 398 in der Anmeldung erwähnt ---	1-10
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 010 no. 023 (C-325) ,29.Januar 1986 & JP,A,60 176563 (SANEI KAGAKU KOGYO KK) 10.September 1985, siehe Zusammenfassung ---	1-10
A	EP,A,0 480 476 (KIMBERLY CLARK CO) 15.April 1992 siehe Zusammenfassung -----	1-10

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

B Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4.Dezember 1995

Abmeldedatum des internationalen Recherchenberichts

15.12.95

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Dauksch, H

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/03298

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE-C-3114593	09-12-82	US-A- 4400398	23-08-83

EP-A-0480476	15-04-92	US-A- 5009745	23-04-91
		US-A- 5009746	23-04-91
		US-A- 5074958	24-12-91
		AU-B- 648343	21-04-94
		AU-B- 8574891	30-04-92
		JP-A- 4281088	06-10-92
		US-A- 5213660	25-05-93
